

Bouillon à l'acétamide

DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon à l'acétamide constitue l'un des milieux de confirmation (en association avec la gélose King B) employés dans le domaine du contrôle des eaux pour les détection et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa*. Il est admis que les eaux minérales naturelles, les eaux de source et les eaux embouteillées ne doivent pas contenir ce microorganisme pathogène, opportuniste pour l'Homme. Pour des raisons de santé publique, d'autres types d'eaux, comme les eaux de piscines ou les eaux destinées à la consommation humaine, peuvent aussi être examinées pour la détection de *Pseudomonas aeruginosa*.

PRINCIPES

- Le sulfate de magnésium, le molybdate de sodium et le sulfate de fer permettent la croissance sélective des *Pseudomonas* dans le milieu.
- Le phosphate monopotassique est source de phosphore.
- Le chlorure de sodium est destiné au maintien de la pression osmotique.
- La production d'ammoniac par les *Pseudomonas aeruginosa,* à partir de l'acétamide présent dans le milieu, est mise en évidence au moyen du réactif de Nessler.

MODE D'EMPLOI

- Inoculer les tubes de milieu prêt-à-l'emploi (BM095) avec les cultures à confirmer, après purification sur gélose nutritive à 2,5% (BM125). D'après la norme NF EN ISO 16266, les colonies à confirmer sont celles qui, ne produisant pas de pyocyanine sur gélose CN pour *Pseudomonas* (BK165 ou BM070), présentent par ailleurs une fluorescence ou une pigmentation brun rougeâtre.
- Incuber à (36 ± 2)°C pendant (22 ± 2) heures. Ajouter une à deux gouttes de réactif de Nessler et examiner les tubes pour la production d'ammoniac.

Réactif de Nessler :

- Chlorure mercurique .... 10 g
- Iodure de potassium .... 7 g
- Hydroxyde de sodium .... 16 g
- Eau (exempte d'ammoniac) .... jusqu'à 100 mL

Dissoudre le chlorure mercurique et l'iodure de potassium dans le minimum d'eau et ajouter le mélange obtenu, lentement et sous agitation, à l'hydroxyde de sodium dissous au préalable dans 50 mL d'eau. Compléter à 100 mL. Conserver à l'abri de la lumière, en flacon borosilicaté fermé hermétiquement.

LECTURE

Une réaction positive est mise en évidence par l'obtention d'une coloration allant du jaune au rouge brique. Lorsque la réaction est négative, il n'y a pas de changement de coloration.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

FORMULE-TYPE

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Acétamide ....2,0 g
- Sulfate de magnésium anhydre ($MgSO_4$)..0,2 g
- Phosphate monopotassique ....1,0 g
- Molybdate de sodium (Na_2MoO_4, $2 \cdot H_2O$) ....5,0 mg
- Sulfate de fer ($FeSO_4$, $7 \cdot H_2O$) ....0,5 mg
- Chlorure de sodium..0,2 g
- Eau (exempte d'ammoniac) ....1000 mL

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,5.

CONTRÔLE QUALITE

- Aspect, couleur : solution incolore, limpide.
- Production d'ammoniac après 22 heures d'incubation à 36°C (NF EN 12780, NF T 90-461) :

Microorganismes		Production d'ammoniac
Pseudomonas aeruginosa	CIP 82.118	positive
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® 10145	positive
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853	positive
Pseudomonas fluorescens	ATCC 13525	négative
Escherichia coli	RIVM WR1	négative
Staphylococcus aureus	CIP 53.154	négative

STOCKAGE / CONSERVATION

- Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

PRESENTATION

	Code
- Sachet de 7 tubes de 5 mL	BM09508

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NF T 90-461 (juillet 2001), NF T 90-461/A1 (juin 2005) et NF T 90-461/A2 (mai 2007). Qualité de l'eau. Contrôle qualité des milieux de culture.

Arrêté du 17 septembre 2003 relatif aux méthodes d'analyses des échantillons d'eau et à leurs caractéristiques de performance (JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE FRANCAISE N° 258 du VENDREDI 7 NOVEMBRE 2003 – MINISTERE DE LA SANTE, DE LA FAMILLE ET DES PERSONNES HANDICAPEES).

NF EN ISO 16266 (T 90-419). Août 2008. Qualité de l'eau. Détection et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa*. Méthode par filtration sur membrane.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr